

生物技术与药用植物开发

中国科学院科海高技术集团公司北京科海医疗生物工程公司(100080)

姜广奋*

中国医学科学院药用植物资源开发研究所

张荫麟

摘要 论述植物天然药物开发与生产中存在的问题,生物技术在药用植物开发研究中的应用以及利用植物细胞培养生产天然产物的研究概况及进展。

我国用植物药防病治病历史悠久。目前我国药用植物已有8000种左右^[1]。我国市售中成药中,从植物中提取的药物或经半合成的药物约占商品药的20%。美国的一般处方药中1/4的药物来源于高等植物^[2]。从天然产物中寻找新的生理活性成分,开发新药成了全球关注和研究的热点,而且天然产物已越来越多地被用于保健食品、保健饮料、美容化妆、天然香料、天然色素、天然甜味剂和苦味剂、药膳、药浴、药枕乃至天然杀虫剂等产品的生产上^[1],对天然产物的需求表现出日益增加的趋势。

21世纪将是生命科学世纪,以重组DNA技术和单克隆抗体技术为标志而出现的生物技术成了高新技术群体中最引人注目的领域之一。在我国传统医药宝库——中草药的研究与开发中,生物技术也具有广阔的应用及发展前景。

1 生物技术在药用植物研究中的应用

生物技术是依据生命科学的有关理论,利用生物学、物理学、化学、工程学等技术,从分子、亚细胞、细胞等水平对生物分子、细胞和生物个体按预定设计进行操作和改造,以更快更有效地获得符合人们需要的生物分子(如酶)、细胞或细胞株系、生物个体或品种和相应的产物和产品。生物技术在药用植物研究与开发中的应用主要包括以下一些方面。

1.1 药用植物种苗或种子的工厂化生产:通过植物组织或器官的离体培养和形态发生可实现植物种苗的大量快速繁殖。a)无毒苗生产。主要用于那些由于病毒病害严重影响产量和质量的药用植物;b)用于靠有性繁殖提供种子而种子发育不完善或种子成本高的药用植物,如西洋参等;c)用于靠无性繁殖提供“种子”而无性繁殖系数低且种子需要量大的药用植物;d)用于渐危或濒危的药用植物及其引种驯化,以保护植物资源。

另外,通过离体培养和体细胞胚胎发生制成的人工种子,有可能在不远的将来实现产业化,产生一次种子革命。

1.2 高产优质药用植物新品种的培育:通过花药培养可进行单倍体育种,胚乳培养进行多倍体育种,组织培养进行细胞无性系育种,原生质体培养用于体细胞杂交育种,染色体工程用于远缘杂交育种以及基因工程育种等。通过这些手段可培育出高天然药物含量及抗病毒、抗真菌、抗细菌、抗虫、抗除草剂、抗农药的优良药用植物新品种。

1.3 药用植物种质保存及建立药用植物种质库:植物组织、细胞或器官超低温液氮保存的成功和离体培养成苗的实现,使种质保存成为可能,同时也能保护植物资源和植物的多样性。

1.4 植物天然产物的工业化生产:通过植物细胞的大规模培养可用于有价值植物天然产物的工业化生产,如通过红豆杉、喜树、三尖杉等的细胞培养生产紫杉醇、喜树碱、三尖杉酯碱等。尤其是用于生产那些化学结构清楚、药理疗效明确(如抗癌,治疗心脑血管疾病,提高人体免疫机能,抗衰老等)、临床效果显著、需要量大而其原植物资源匮乏或其在原植

* Address: Jiang Guangfen, Beijing Kehai Medical and Biology Engineering Company,
Chinese Academy of Sciences, Beijing

物中含量很低、原植物引种栽培尚未成功或生长周期长、利用化学方法或酶法不能或难以合成的有效药物成分,就更显示出其优越性:不受资源的限制,亦不会破坏植物资源;不受季节、地理、气候、自然灾害等的影响;可根据需要灵活调节生产,适时满足需要;可进行特异生物转化,产生更有效的药物成分;可节约耕地等等。因此通过植物细胞大规模培养直接生产植物天然产物成了现在生物技术中的研究热点和植物生物技术的两大主流之一,成为药用植物资源开发和保护的一种新形式,而且也是目前生物技术用于药用植物研究的主要形式。

2 植物细胞培养生产天然产物研究进展

生物工程在产业化过程中首先涉足的就是医药领域。目前在医药领域的一些生物工程产品主要是对人体有独特生理活性的蛋白类物质,这些物质最初发现自人体或动物,但含量甚微。通过DNA重组和基因表达调控可使之在微生物中高效表达,以满足需要。在所有可利用的生物资源中,对人体有独特生理活性的物质,除来自动物和人体的蛋白、多肽类生化分子、来自微生物的抗生素等次生代谢产物外,还有来自植物的丰富多样的植物天然次生代谢产物。许多有独特生理活性的植物天然次生产物,在植物中的含量也很低,而且利用微生物或化学方法不能或难以合成,并且受到资源和环境条件的限制,靠采集野生资源提取很难满足需要。因此用生物工程这种高新技术来工业化生产这些物质势在必行。植物次生代谢物细胞工程就是在这种情形下产生和发展起来的。1956年Routie和Wicreu首次提出利用植物细胞培养技术生产天然产物的专利^[3]。通过几十年的发展,植物细胞培养技术已成为一门精细的实验科学,并正在发展成为一门新兴的科学、技术及产业体系。尤其是80年代以来,以植物天然产物生产为目的植物细胞培养研究取得了巨大进展。1983年日本紫草*Lithospermum erythrorhizon*细胞大规模培养的成功和紫草素工业化及商业化生产的实现^[4]标志着植物次生代谢物细胞工程产业化的开始,进一步增加了人们对此领域研究的信心和热情。据统计^[5],仅1980到1986年7年中发表的论文数比前30年的总和还多。除紫草外,利用人参*Panax ginseng*根培养物生产食品添加剂等也已进入商业市场^[6]。利用长春花*Catharathus roseus*培养细胞生产蛇根碱和阿吗碱^[7]和利用毛地黄*Digitalis lanata*培养细胞生产地高辛^[8]等亦都进行了工业化生产。

据不完全统计,进行组织和细胞培养研究的药用植物已有200多种^[5],其中以次生代谢物生产为目的细胞工程研究有40多种^[5]。从植物细胞培养物中提取的成分已有500多种^[5],其中有30多种成分的含量达到或超过原植物^[5]。另外,已从30种植物的细胞培养物中得到了85种新的化合物,其中27种为生物碱,19种为萜类,30种为蒽醌类,11种为苯丙烷类^[9]。

围绕提高产物含量和产量以及降低成本,在研究技术、方法和基础研究方面也取得了很大进展,主要有以下一些方面。

2.1 培养条件的优化:包括各种营养因素、激素配比、pH值、温度、光照及接种量等理化因素对细胞生长和产物含量的影响。其中激素的作用十分明显。在这方面最大的进展是两步培养法的产生及推广,提出了生长培养基和生产培养基的概念。

2.2 高产细胞株系的选择:利用离体培养细胞中出现的变异体或突变体以及灵敏的现代分析技术〔如放射免疫(RIA)、酶标免疫(ELIA)等免疫分析技术〕从细胞团水平甚至单细胞水平筛选产物含量高的细胞株系。此外,利用细胞变异还可选出激素自主型细胞系。

2.3 植物细胞的固定化培养。

2.4 诱导子技术。

2.5 植物细胞的大规模培养(即发酵罐培养)。

2.6 适合于植物细胞大规模培养的各种生物反应器的研制及利用等。

2.7 植物基因工程技术在植物细胞培养中的应用,主要有2个方面:a)通过植物次生代谢关键酶及其它酶的DNA序列;即基因的确定、分离和克隆,利用DNA重组和遗传转化技术将合成次生代谢产物合成所需的基因导入细菌或真菌,快速合成所需产物;b)通过发根农杆菌 *Agrobacterium rhizogenes* Ri质粒和根癌农杆菌 *A. tumefaciens* Ti质粒介导的天然植物遗传转化,建立发根培养系统和冠瘿瘤培养系统,通过发根培养和冠瘿瘤培养来生产原植物中的天然次生产物。这2种培养系统都具有激素自养和生长迅速的特点,尤其是发根培养,不仅生长快而且产物含量往往较高和稳定。

2.8 基础研究方面,主要内容有:细胞分化与次生代谢产物合成和积累的关系;植物次生代谢途径即生源途径的生理生化研究,植物次生代谢关键酶和相关酶基因表达调控的分子生物学研究;次生代谢产物合成和积累部位及胞外释放的细胞生物学研究;大规模细胞培养的发酵动力学研究等等。在这些研究基础上发展出2种新技术即两相培养技术^[10]。

关于植物次生代谢物细胞工程研究进展的综述很多,在此不再赘述。

综上所述,生物技术在药用植物资源开发与保护、种质保存、新品种培育、引种驯化、种子生产与种苗的快繁脱毒、有效成分的生物合成、生物转化以及人工大规模工业化生产等方面都有巨大潜力,显示出生物技术在药用植物研究中的优越性和应用开发前景。

参 考 文 献

- 1 肖培根.中国医学科学院药用植物资源开发研究所庆祝建所七周年学术报告会论文集.1993.1
- 2 叶和春,等.植物生物技术和作物改良.北京:科学技术出版社,1990.181
- 3 刘 涤.生物工程学报,1987,3(1): 9
- 4 Fujita Y, et al. Plant Tissue and Cell Culture. New York: Alan R Liss Inc, 1987.169
- 5 郑光植.云南植物研究,1988,增刊 I: 125
- 6 甘炳远,等.植物学通报,1991,8(4): 14
- 7 Drapeau D, et al. Planta Medica, 1987, 53: 368
- 8 Misawa M. Adv in Biochem Eng/Biotechnol, 1985, 31: 59
- 9 侯嵩生,等.植物学通报,1991,8(3): 30
- 10 陈士云,等.生物工程进展,1993,14(2): 43

(1994-05-16收稿)

华钩藤中的羟吲哚生物碱

Feng Xiaozhang. Phytochem, 1993, 33(3): 707

华钩藤 *Uncaria sinensis* (Oliv) Haval 为我国传统草药,用于退热和各种神经疾病。作者等曾从其中分得多个吲哚生物碱。在继续研究中又分得5个新吲哚生物碱,分别命名为 isopteropodic

酸, pteropodic 酸, mitraphyllic 酸, isorhynchophyllic 酸和 rhynchophyllic 酸。

(史玉俊 摘译)

仙茅中的新皂甙和皂甙配基

徐俊平,等. Phytochem, 1992, 31(7): 2455

作者等前曾报道从仙茅 *Curculigo orchioioides* 分得多个环艾烷三萜皂甙和皂甙配基[中草药, 1993, 24(7): 385]。今又从其中分得2个新皂甙配基

curculigenin B 和 C, 及3个新皂甙 cucurligosaponin K, L 及 M。

(史玉俊 摘译)

山甘草中的二个新皂甙

徐任生,等. J Nat Prod, 1992, 55(8): 1124

前曾从茜草科的山甘草 *Mussaenda pubescens* 中几个环艾烷皂甙 mussaendoside A, B 和

C, 今又继续分得2个新的皂甙,分别命名为 mussaendoside M 和 N。

(史玉俊 摘译)